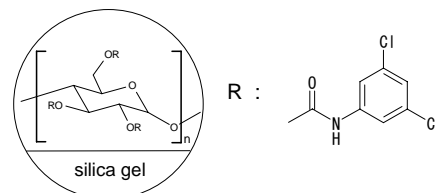
CHIRALPAK IE カラム 取扱説明書

ご使用の前に必ずお読み下さい

カラムの詳細

カ ラ ム エ ン ド　：ウォーターズタイプ
不 斉 識 別 剤　：Amylose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate)
粒　　子　　径　：5 μm
出荷時の封入溶媒　：n-ヘキサン / 2-プロパノール = 90 / 10 (v/v)

不斉識別剤の構造

（カラムは全て出荷前に品質検査を実施しています。 検査条件と検査結果およびカラムロット番号は同封の品質検査レポートをご参照下さい。）

この取扱説明書は、本カラムについてのみ有効です。他のカラムには絶対に適用しないで下さい。
下記のガイドラインに従ってお使い頂ければ、本カラムを長期間安定してお使い頂けます。

カラム使用条件

カラムサイズ (内径×長さ)	2.1 x 150 mm 2.1 x 250 mm 細径カラム	4.6 x 150 mm 4.6 x 250 mm 分析用カラム	10 x 250 mm セミ分取用カラム	20 x 250 mm セミ分取用カラム
通液方向	カラムのタグに明示されています。			
圧力範囲①	カラムを長くお使い頂く為、30MPa（～ 305 kgf/cm²）を超えない圧力でのご使用をお勧めします。			
温度範囲	0 ～ 40℃（順相移動相）， 5 ～ 40℃（pH<7 の逆相系移動相），5 ～ 25℃（pH≧7 の逆相系移動相）			
pH②（逆相移動相）	pH 2.0 ～ 9.0			

① 圧力とは、カラム自体にかかる背圧の最大値のことです。この背圧は、カラムを HPLC 装置に接続し、通液した場合の系内全体の圧力から、同条件でカラムを接続しない場合の系内全体の圧力を差し引いた値になります。
② pH 7.0 以上でご使用になる時は、カラム温度は 25℃以下にして下さい。またカラム保護のため必ずガードカートリッジをご使用ください。

重要注意事項

⇨ **本取扱説明書の内容は、他のダイセルのキラルカラムには適用できません。**

⇨ カラムを長くお使い頂くために、専用のガードカートリッジをご使用下さい。

⇨ カラムに強い衝撃を与えたり、カラムを分解しないで下さい。

⇨ 本カラムの使用に関するご質問、あるいはカラムに関するトラブルについては、キラルヘルプデスク（0120-780-104）または末尾記載の連絡先までお問い合わせ下さい。

⇨ 本書の内容に従いカラムを取扱うことで、カラムを長くお使い頂くことができます。

<移動相について>

　CHIRALPAK IE カラムには、一般にシリカゲルベースの HPLC 用カラムに使用できる移動相であれば、どの様な移動相でもご使用いただけます。例えば、アルカン／アルコールの混合系及びアルカンと t-ブチルメチルエーテル(MTBE)、 ハロゲン系溶媒(ジクロロメタン等)などの溶媒の混合系で、より良い分離を得られることが多いようです。

　また CHIRALPAK IE カラムは逆相系移動相（水系移動相）も使用できます。一般的な水（塩水溶液）／アセトニトリル、水（塩水溶液）／アルコールの混合系に加え、水と相溶するテトラヒドロフラン(THF)、アセトンのような溶媒も移動相としての使用が可能です。有機溶剤系（順相）移動相から水系（逆相）移動相へ、あるいは水系（逆相）移動相から有機溶剤系（順相）移動相へ置換する場合は、必ず相溶する溶媒（例えばエタノール、2-プロパノールなど）を介して置換を行ってください。

【順相系移動相の場合】

推奨移動相条件

A　移動相

　下表 1 及び 2 に、移動相条件を最適化する際に指針となる情報をまとめました。ハロゲン系溶媒、MTBE、トルエンなど極性の低い溶媒をご使用の場合は、これらの単独溶媒での使用も可能です。また THF や酢酸エチルなど溶出強度の強い溶媒の場合には、一般にアルカンとの混合系で使用する方が良い結果が得られます。

【スクリーニング】

　様々な化合物の分析条件を決定するためには、まず下記の第一選択推奨溶媒からお試し下さい。第一選択推奨溶媒で分離を得られなかった場合や、第一選択推奨溶媒では化合物が溶解しにくい場合は、第二選択推奨溶媒をお試し下さい。

表 1． 標準スクリーニング条件

第一推奨 スクリーニング溶媒	アルカン①/ 2-プロパノール	アルカン①/エタノール	アルカン①/MTBE②/ エタノール	アルカン①/ $CH_2Cl_2$③ (/エタノール)
一般的な初期条件 (v/v/v)	80:20	80:20	0:98:2	50:50
推奨する組成範囲 (v/v/v)	99:1 ~ 50:50	99:1 ~ 50:50	90:10:0(0:100:0) ~ 0:60:40(0:60:40)	85:15 ~ 0:100

① アルカン: n-ヘキサン、iso-ヘキサン、n-ヘプタン。サンプルによってはアルカンの種類によって多少分離が異なることがあります。
② 比較的溶出力の弱い MTBE 移動相を用いた場合、エタノールを添加して保持の強さやピーク形状の調節により、良好な分離が得られることがあります。逆に極端に保持の弱い化合物に関してはアルカンと MTBE の混合溶媒系が好適な場合があります。
③ クロロホルム、ジクロロメタンなど比較的溶出力の弱い移動相を使用する場合は、アルコール(エタノール, メタノール, 2-プロパノール)を 1~5 %程度添加して保持の強さやピーク形状を調節することによって、より良好な分離が得られることがあります。サンプルの保持が強すぎる場合には、ジクロロメタンに対して～20%のエタノールを添加することが効果的です。

表 2. その他のスクリーニング条件

第二推奨 スクリーニング溶媒	アルカン①/ THF	アルカン① /酢酸エチル④	アルカン①/$CHCl_3$③	アセトニトリル/ アルコール類⑤	メタノール/ 他のアルコール類
一般的な初期条件 (v/v/v)	70:30	50:50	70:30	100:0	100:0
推奨する組成範囲 (v/v/v)	95:5 ～ 0:100	80:20 ～ 0:100	85:15 ～ 0:100	80:20 ～ 0:100	100:0 ～ 0:100

④ 保持の強い化合物の場合、アルコール（エタノール, メタノール, 2-プロパノール）または THF を酢酸エチルに添加することによって溶出時間を短くすることができます。
⑤ アルコール類: メタノール, エタノール, 2-プロパノールあるいは THF。
⑥ 移動相の選択（特にアセトン、酢酸エチル、トルエン、高濃度のクロロホルム等）とサンプルの構造によっては、UV 検出器による検出が困難になる場合があります。その場合は、RI 検出器や蒸発光散乱検出器(ELSD)など UV 吸収に左右されない検出器をご使用下さい。

B　添加剤

・順相系移動相を用いて酸性試料を分析する際にはトリフルオロ酢酸や酢酸等を、また同様に塩基性試料を分析する際には、ジエチルアミン (DEA)やエチレンジアミン(EDA)、エタノールアミン(EtNA)等を、それぞれ 0.1 %程度移動相に添加して

分析して下さい。コーティング型カラムと異なり、EDA や EtNA の使用がジエチルアミン（DEA）よりも高い効果を得ることがしばしばあります。但し、EDA は DEA に比べて極性の低い移動相と混合しにくいので、2%程度のエタノール又はメタノールを併せて用いると、移動相の二層分離を防止することができます。

塩基性試料用添加剤	酸性試料用添加剤
ジエチルアミン（DEA） エチレンジアミン(EDA) エタノールアミン(EtNA) ｎ－ブチルアミン(BuA)	トリフルオロ酢酸（TFA） 酢酸
通常 0.1% （最大 0.5%）	通常 0.1% （最大 0.5%）

カラム洗浄及びカラムリセット条件

多糖系光学異性体分離用カラムの分離特性は、多糖の高次構造に依存します。移動相や温度条件によってはこの高次構造が変化することがあり、そのような条件下で長時間使用されたカラムでは、それ以前の分離が再現できなくなる可能性があります。このような現象が見られた場合には、下記の手順に従ってカラム分離特性の″リセット″（出荷時の状態に戻す）を行って下さい。また下記の手順はカラムの洗浄条件としてもお使い頂けます（但し、下記の溶媒に対する試料又は不純物の溶解度が低い場合には、あらかじめそれらの溶解度が高い移動相を数時間～十数時間通液した後、下記の手順を実施して下さい）。

⇨ 塩基性が非常に強い試料、移動相、又は添加剤は、担体であるシリカゲルにダメージを与える可能性が高いので、ご使用をお控え下さい。

- エタノールを 0.5 ml/min. で 30 分通液した後、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)を 0.3 ml/min. で 180 分通液して下さい。
- エタノールを 0.3 ml/min. で 50 分通液した後、n-ヘキサン / 2-プロパノール = 9 / 1 (v/v) を 0.5 ml/min. で 60 分以上通液して十分平衡化した後、別紙の品質検査レポートと同じ分析条件にてカラムの分離性能をチェックし、出荷時と同等のクロマトグラムが得られるかどうか確認して下さい。

上記の手順でカラムが十分リセットされなかった場合は、再度上記の手順を繰り返して下さい。
（注：上記の流速は、カラムの内径が 4.6 mm の場合のものです。それ以外のサイズの場合は、カラムの断面積比によって流速を調節して下さい）

カラム保存条件

❑ カラムを１週間以上ご使用にならない場合には、エタノールに置換して保存して下さい。ヘキサン等脂肪族炭化水素系の移動相をお使いの場合は、n-ヘキサン / 2-プロパノール = 9 / 1 (v/v) にて保存して頂いても結構です。

❑ 塩基性や酸性の添加剤をお使いになられた場合、又は移動相に塩を加えてお使いになられた場合には、使用後速やかに添加剤や塩を含まない移動相にて置換して下さい。

【逆相系移動相の場合】

推奨移動相条件

A　移動相

		酸性化合物	中性化合物	塩基性化合物④
CHIRALPAK IE	水溶液①	ギ酸水溶液 pH 2.0	水	DEA で pH 9.0 に調整した 20mM NH_4HCO_3 水溶液
	有機溶媒②	CH_3CN、MeOH、EtOH、IPA、THF		
	標準的な 移動相組成③	水溶液 / 有機溶媒 = 60 / 40		

DEA：ジエチルアミン、NH_4HCO_3：炭酸水素アンモニウム、CH_3CN：アセトニトリル、MeOH：メタノール
EtOH：エタノール、IPA：2-プロパノール、THF：テトラヒドロフラン

① 上記移動相で充分な分離が得られない場合には下記の水溶液をお試し下さい。

	酸性化合物	塩基性化合物
CHIRALPAK IE	50～100mM リン酸緩衝液 pH 2.0	20mM ホウ酸緩衝液 pH 9.0
	リン酸水溶液 pH 2.0	

② ❑ 一般に、有機溶媒の溶出力は THF、アセトニトリル、2-プロパノール、エタノール、メタノールの順です。
❑ 有機溶媒としてアルコールを使用した場合、アセトニトリルに比べて背圧が高くなりますのでご注意下さい。
❑ カラム性能を劣化させる恐れがありますので表記以外の有機溶媒をご使用にならないで下さい。

③ ❑ 移動相は、ご使用する前に 0.5μm 程度の多孔質メンブレンフィルターで濾過して下さい。
❑ 移動相は、水溶液とアセトニトリルの混合液（組成比 60/40 (v/v)）から検討を始めることをお勧めします。試料の溶出時間を調節したい場合は、移動相の組成比を調整して下さい。
❑ カラム温度を下げると、保持時間が長くなり分離係数が向上する場合があります。
❑ カラム温度を上げて流速を下げると、分離度が向上する場合があります。
❑ 有機溶媒は下表の範囲でご使用いただけますが、移動相の有機溶媒組成比が高くなると塩が析出しカラムの詰りの原因となります。

水溶液 / 有機溶媒
90 / 10 ～ 0 / 100

④ ❑ シリカゲルの劣化を避けるため、強塩基性水溶液 (pH>9.0)は使用しないで下さい。
❑ pH 7.0 以上でご使用になる時は、カラム温度は 25℃以下にして下さい。またカラム保護のため必ずガードカートリッジをご使用ください。
❑ 塩基性が非常に強い試料は、シリカゲルを劣化させる恐れがあります。

試料の調製

❑ 試料は可能な限り移動相に溶かし、0.5μm 程度の多孔質メンブレンフィルターで濾過してからご使用下さい。

カラムの洗浄・保管

❑ 酸または塩を含む移動相で使用した後は、それらを含まない同一の組成の移動相をカラムに通液し、完全に除去して下さい。
❑ 有機溶媒組成の高い移動相に置換する場合は、HPLC 装置とカラムを水/有機溶媒混合液で洗浄し、塩類を完全に除去して下さい。
❑ 試料が吸着した場合、アセトニトリルやメタノールなど試料が溶解しやすい溶媒を 0.5ml/min. の流速で 2 時間程度通液して下さい。(内径 4.6mm カラムの場合)
❑ 逆相条件で継続的にご使用になられる場合は、水/アセトニトリル混合液（組成比 60/40 (v/v))に置換してカラムを保管して下さい。

株式会社ダイセル

CPI カンパニー： 〒108-8230 東京都港区港南 2-18-1 TEL: 03-6711-8222 FAX: 03-6711-8228
〒530-0001 大阪市北区梅田 3-4-5 TEL: 06-6342-6161 FAX: 06-6342-6168